

Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Dentária



**Efeito da Contaminação Salivar na Adesão à
Dentina com Adesivos Universais**

Joana Rita de Abreu Luís

Dissertação

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

2018

Universidade de Lisboa
Faculdade de Medicina Dentária



Efeito da Contaminação Salivar na Adesão à Dentina com Adesivos Universais

Joana Rita de Abreu Luís

Dissertação orientada pelo Professor Jaime Pereira Fontes de Almeida
Portugal e co-orientada pela Professora Ana Filipa Marques Chasqueira

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

2018

Agradecimentos

Ao meu orientador Professor Doutor Jaime Portugal, quero expressar o meu profundo agradecimento pela sua indispensável e rigorosa orientação científica, bem como por todo o conhecimento partilhado durante a realização desta tese de mestrado.

À minha co-orientadora Professor Doutora Filipa Chasqueira, deixo um agradecimento enorme pela constante disponibilidade, apoio e orientação, que foram imprescindíveis para a realização deste trabalho.

À Professora Doutora Sofia Oliveira pela sua simpatia constante e ajuda prestada durante a execução laboratorial.

A todos os docentes, funcionários e alunos da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa que, de alguma forma, contribuíram para que todo este trabalho tenha sido possível de concretizar.

Aos meus colegas e companheiros de laboratório Mariana Guttiérrez, Nuno Prudêncio, Filipe Rodrigues, Natália Costa, Bruna Gonçalves e Margarida Venâncio por todo o apoio e por todas as horas que dispensaram para me ajudar.

Aos meus colegas e amigos Duarte Bruschy e Diogo Santos pela ajuda e pelos bons momentos partilhados ao longo destes anos.

À minha melhor amiga Natielle Gonçalves pela sua boa-disposição, alegria e, mais importante que tudo, por todas as demonstrações de amizade verdadeira que sempre teve e tem para comigo.

Ao meu amigo Sérgio Lacerda por ter acreditado sempre em mim e por me ter dado motivação e força sempre que precisei.

Por fim, deixo o meu maior agradecimento às pessoas mais importantes da minha vida, aos meus pais e irmão, por todo o vosso amor e por me fazerem sorrir, mesmo nos momentos mais difíceis.

A todos, o meu mais sincero muito obrigada.

Resumo

Objetivo: Avaliar a influência da contaminação salivar após polimerização de um adesivo universal e comparar a eficácia de dois diferentes métodos de descontaminação de saliva e reaplicação do adesivo, na resistência adesiva sob forças de corte à dentina, após 24 horas e 6 meses.

Materiais e métodos: 50 molares íntegros foram seccionados, de forma a obter duas fatias de dentina por dente. Estas foram distribuídas aleatoriamente em 5 grupos (SC – sem contaminação, A – descontaminação com água, A+Ad – descontaminação com água seguida de reaplicação do adesivo, E – descontaminação com etanol, E+Ad – descontaminação com etanol seguida de reaplicação do adesivo), de onde foram retirados espécimes para o ensaio de resistência adesiva das 24 horas e dos 6 meses. Após aplicação do sistema adesivo (Scotchbond Universal™) e respetivo protocolo experimental, foi testada a resistência adesiva dos espécimes até à fratura. Seguidamente, o tipo de falha de união foi observado. Foi também realizado o estudo ultramorfológico da interface adesiva através de MEV. Os resultados obtidos foram sujeitos a testes não-paramétricos de acordo com o método Kruskal-Wallis, seguidos de testes de Mann-Whitney, de forma a comparar as diferenças entre grupos, com um nível de significância de 5%.

Resultados: Os grupos sem contaminação, quer às 24 horas, quer aos 6 meses, apresentaram valores superiores de resistência adesiva ($p < 0,001$), independentemente do método de descontaminação subsequente. A avaliação dos grupos experimentais com contaminação apresentou diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,001$), após 6 meses de envelhecimento, relativamente à reaplicação do adesivo, tendo este grupo apresentado valores mais elevados de adesão. O tipo de falha de união mais observada foi a falha adesiva.

Conclusão: A contaminação salivar após a polimerização do adesivo universal mostrou-se prejudicial nos valores de resistência adesiva. A reaplicação do adesivo após descontaminação, apesar de não recuperar as forças de adesão, apresentou melhores resultados após 6 meses de envelhecimento.

Palavras-chave: Contaminação salivar; descontaminação; adesivos universais; adesão à dentina; resistência adesiva sob forças de corte

Abstract

Purpose: The aim of this study was to determine the influence of salivary contamination after curing of a universal adhesive and compare the effectiveness of two different decontamination procedures and reapplication of adhesive, on dentin bond strength, after 24 hours and 6 months.

Methods: 50 sound molars were sectioned, in order to obtain two slices of dentin in each tooth. The specimens were randomly distributed into five groups (SC – no contamination; A – decontamination with water; A+Ad – decontamination with water and reapplication of adhesive; E – decontamination with ethanol; E+Ad – decontamination with ethanol and reapplication of adhesive). In which group were removed specimens for 24 hours and 6 months strength test. After application of the adhesive system (Scotchbond Universal™) and respective experimental protocol, the shear bond strength was tested until fracture. The type of bond failure was observed. It was also carried out the ultra-morphological study of adhesive interface through SEM. The data were statistically analysed using non-parametric Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests to compare differences between groups. Statistical testing was performed at a 5% level of significance.

Results: Groups without contamination, either at 24 hours or at 6 months, presented higher SBS values, regardless of the subsequent decontamination method ($p < 0,001$). The evaluation of experimental groups with contamination showed statistically differences in groups with reapplication of adhesive, after 6 months of aging ($p < 0,001$). The most observed type of failure was adhesive.

Conclusion: When saliva contamination occurs after curing of universal adhesive, it seems that significantly decreases the bond strength of the adhesive to dentin. The reapplication of adhesive after decontamination do not recovered the adhesion forces, but presented better results after 6 months of aging.

Keywords: Saliva contamination; decontamination; universal adhesive; dentin bonding; shear bond strength

Índice

Agradecimentos	i
Resumo	iii
<i>Abstract</i>	v
Índice de Figuras	viii
Índice de Tabelas	x
Abreviaturas.....	xi
Símbolos	xi
Unidades	xi
1. Introdução.....	1
2. Objetivos	4
3. Materiais e Métodos	6
3.1. Delineamento experimental	6
3.2. Materiais utilizados.....	7
3.3. Ensaio de resistência adesiva sob forças de corte.....	7
3.4. Estudo ultramorfológico da interface adesiva através de MEV.....	10
3.5. Análise estatística	12
4. Resultados.....	13
4.1. Estatística descritiva	13
4.2. Estatística inferencial	14
4.3. Análise do tipo de falha	17
4.4. Estudo ultramorfológico da interface adesiva.....	18
5. Discussão	20
6. Conclusão	25
7. Referências Bibliográficas.....	26
8. Apêndices	31

Índice de Figuras

Figura 1 – Delineamento experimental.....	6
Figura 2 – Preparação dos espécimes	8
Figura 3 – Espécime montado nas placas de Watanabe com restauração em resina composta realizada através de um molde de silicone.....	8
Figura 4 – Espécime montado nas placas de Watanabe.....	9
Figura 5 – Placas de Watanabe adaptadas à máquina de testes mecânicos universal, durante a realização do ensaio de resistência adesiva sob forças de corte..	10
Figura 6 – Sequência de lixas e de panos de feltro para polimento dos espécimes a serem observados no MEV.....	11
Figura 7 – Equipamento utilizado para o estudo ultramorfológico da interface adesiva.....	12
Figura 8 – Diagrama de caixas dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa), obtidos às 24 horas, dos diferentes grupos experimentais.....	14
Figura 9 – Diagrama de caixas dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa), obtidos às 24 horas, comparando os diferentes métodos de descontaminação (água/etanol).....	15
Figura 10 – Diagrama de caixas dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa), obtidos às 24 horas, comparando os grupos com reaplicação do adesivo com os grupos sem reaplicação.....	15
Figura 11 – Diagrama de caixas dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa), obtidos aos 6 meses, dos diferentes grupos experimentais.....	16

Figura 12 – Diagrama de caixas dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa), obtidos aos 6 meses, comparando os diferentes métodos de descontaminação (água/etanol).....	16
Figura 13 – Diagrama de caixas dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa), obtidos aos 6 meses, comparando os grupos com reaplicação do adesivo com os grupos sem reaplicação.....	17
Figura 14 – Percentagem de falhas de união obtidas durante o ensaio de resistência adesivo dos diferentes grupos experimentais.....	17
Figura 15 – Microfotografia da interface adesiva obtidas com MEV do grupo controlo, sem contaminação (SC), com uma ampliação de 2.5 KX.....	18
Figura 16 – Microfotografia da interface adesiva obtidas com MEV do grupo descontaminação com etanol (E), com uma ampliação de 2.5 KX.....	19
Figura 17 – Microfotografia da interface adesiva obtidas com MEV do grupo descontaminação com etanol (E+Ad), seguida de reaplicação do adesivo, com uma ampliação de 2.5 KX.....	19
Figura 18 – Microfotografia da interface adesiva obtidas com MEV do grupo descontaminação com água (A), com uma ampliação de 2.5 KX.....	19
Figura 19 – Microfotografia da interface adesiva obtidas com MEV do grupo descontaminação com água (A+Ad), seguida de reaplicação do adesivo, com uma ampliação de 2.5 KX.....	19

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Materiais utilizados, respetiva composição e modo de utilização (segundo os fabricantes).....	7
Tabela 2 – Protocolos utilizados para descontaminação da saliva, para cada grupo experimental.....	9
Tabela 3 – Análise descritiva dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa) e tipo de falha de união nos diferentes grupos experimentais.....	14

Abreviaturas

SBS – resistência adesiva sob forças de corte (*shear bond strength*)

HEMA – 2-hidroxietil metacrilato

MDP – monómero metacriloxidecil fosfato (*10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate monomer*)

SEM – microscópio eletrônico de varrimento (*scanning electron microscope*)

Bis-GMA – Bisfenol glicidil metacrilato

LED – diodo emissor de luz (*light-emitting diode*)

SPSS- Statistic Package for Social Sciences

Símbolos

% – percentagem

pH – potencial de hidrogénio

n – tamanho da amostra

p – significância estatística

Unidades

μm – unidade de medida (micrómetros)

MPa – unidade de medida (megapascal)

$^{\circ}\text{C}$ – unidade de temperatura (graus Celsius)

nm – unidade de medida (nanómetros)

mm – unidade de medida (milímetros)

mW/cm^2 – unidade de intensidade de radiação (microwatt por centímetro quadrado)

kV – unidade de tensão elétrica (quilovolts)

1. Introdução

Desde a introdução das técnicas adesivas na Medicina Dentária, uma das preocupações mais frequentes é a obtenção de um campo operatório totalmente seco, de modo a que os procedimentos adesivos sejam realizados nas suas condições ideais. Por este motivo, a utilização do dique de borracha é essencial, no entanto, existem certas situações que dificultam ou impossibilitam a sua utilização, tais como, restaurações com margens subgingivais, dentes parcialmente erupcionados ou dentes mal posicionados (Vieira *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2015; Elkassas & Arafa, 2016).

Neste sentido, uma das formas que permite minimizar o risco de contaminação salivar é a redução dos passos clínicos dos sistemas adesivos, tal como acontece nos sistemas autocondicionantes ou *self-etch* (Brauchli *et al.*, 2010).

Os sistemas adesivos atuais são classificados com base no número de passos que os constituem e no seu modo de interação com a estrutura dentária, nomeadamente com a *smear layer*. Assim, existem os sistemas *etch-and-rinse* (três ou dois passos), nos quais é necessário a utilização prévia de um ácido para remoção da *smear layer* e os sistemas *self-etch* (dois ou um passo) que apenas modificam a sua permeabilidade, incorporando-a na interface adesiva (Van Meerbeek *et al.*, 2003; Pashley *et al.*, 2011). Para além destes, na última década foram desenvolvidos sistemas adesivos universais que permitem uma maior versatilidade e liberdade de escolha para o clínico (Muñoz *et al.*, 2015).

Os adesivos universais podem ser utilizados segundo a estratégia *etch-and-rinse*, *self-etch* ou *selective etch* (condicionamento seletivo do esmalte com ácido ortofosfórico a 37%) e em diversos substratos tais como o esmalte, dentina, cerâmica ou metal (Perdigão *et al.*, 2014). Nestes sistemas, são geralmente utilizados monómeros funcionais de 10-metacriloxidecilo dihidrogenofostato (10-MDP), que permitem uma ligação química ao cálcio da hidroxiapatite, possibilitando a criação de uma interface adesiva íntegra e estável ao longo do tempo (Yoshida *et al.*, 2012; Osorio *et al.*, 2003).

No caso da utilização de adesivos com estratégia *self-etch*, o desempenho clínico está dependente do seu pH, pois é necessária a presença de monómeros suficientemente acídicos de forma a desmineralizar a *smear-layer* e a porção mais superficial da dentina (Alex, 2015). Nestes, a adesão irá ocorrer através de um efeito simultâneo de desmineralização dos componentes inorgânicos da dentina e de infiltração dos monómeros de resina na rede de colagénio, seguidos da polimerização do adesivo *in situ*

(Eick *et al.*, 1997; Gordon *et al.*, 1997). Desta forma, os adesivos simplificados, onde se incluem os sistemas adesivos universais, permitem uma aplicação mais fácil para o clínico, apresentando menor número de passos e um procedimento menos sensível (Taskonak & Sertgo, 2002).

A contaminação salivar durante o protocolo adesivo está associada a diversos problemas, tais como o aumento da microinfiltração e a redução das forças adesivas, levando a uma menor longevidade das restaurações em resina composta (Park & Lee, 2004; Yoo *et al.*, 2006). Na observação microscópica de substratos dentinários contaminados com saliva, verifica-se que esta não impede a formação da camada híbrida, mas reduz a adaptação do material restaurador ao adesivo (Duarte *et al.*, 2005; el-Kalla, 1999).

Contudo, o efeito da contaminação é dependente do tipo de superfície que está a ser aderido pelo facto da adesão à dentina ser extremamente complexa comparativamente à adesão ao esmalte. Neste sentido, não existe um consenso relativamente ao efeito da contaminação salivar no substrato dentinário, pois enquanto alguns estudos reportaram uma franca diminuição da resistência adesiva, outros verificaram não existir uma redução acentuada das forças adesivas em superfícies contaminadas (Fritz *et al.*, 1998; Yoo *et al.*, 2006; Taskonak & Sertgoz, 2002; Zuffa *et al.*, 2014; Townsend *et al.*, 2004). Estas diferenças nos resultados têm sido relacionadas com o tipo de sistema adesivo utilizado, a etapa do procedimento em que ocorre a contaminação e o tipo de contaminante, sendo que os mais frequentes são o sangue e a saliva (Kim *et al.*, 2015).

A literatura é consistente relativamente ao facto da contaminação com sangue ser mais prejudicial para a interface adesiva que a contaminação salivar, por este possuir macromoléculas, como plaquetas e fibrinogénio, capazes de formar uma película à superfície do dente (Prasad *et al.*, 2014; Koppolu *et al.*, 2012). No entanto, a saliva é considerada o meio de contaminação mais frequente durante os procedimentos restauradores (Khanehmajedi *et al.*, 2017).

Tal como foi referido anteriormente, a influência da contaminação salivar depende do tipo de sistema adesivo que está a ser utilizado. No caso dos sistemas *etch-and-rinse*, quando a contaminação ocorre antes da aplicação do *primer*, a saliva irá ocluir as microretenções criadas pelo ácido, interferindo posteriormente com a penetração do adesivo e resultando numa diminuição da retenção mecânica deste (Khanehmajedi *et al.*, 2016). Nos sistemas *self-etch*, devido à sua capacidade acídica e à presença de solventes como a acetona e o etanol, tem-se verificado que estes parecem ser mais tolerantes à

humidade e, consequentemente, à contaminação salivar antes da polimerização do adesivo (Eiriksson *et al.*, 2004; Hormati *et al.*, 1980,). Já no caso de a contaminação ocorrer após polimerização, as glicoproteínas salivares irão fixar-se à estrutura do adesivo previamente polimerizado, formando uma barreira e impedindo a copolimerização do incremento de resina composta (Sattabanasuk *et al.*, 2006).

Poucos autores têm estudado o efeito da contaminação nos diferentes passos do procedimento adesivo, bem como os possíveis métodos de descontaminação, pelo que não existe um consenso acerca de qual o melhor protocolo caso ocorra contaminação durante a aplicação do sistema adesivo (Park & Lee, 2004; Silverstone *et al.*, 1985; Neelagiri *et al.*, 2010). Deste modo, com o crescente aumento da utilização de restaurações adesivas, a influência da contaminação durante estes procedimentos surge como um tema relevante

2. Objetivos

Este estudo teve como principal objetivo avaliar laboratorialmente a influência de dois protocolos de descontaminação de saliva e da reaplicação do adesivo na resistência adesiva da resina composta à dentina, às 24 horas e aos 6 meses, de acordo com os seguintes objetivos específicos e hipóteses:

1. Avaliar a influência do envelhecimento da interface na resistência adesiva de uma resina composta à dentina.

H0: O envelhecimento da interface não influencia os valores de resistência adesiva da resina composta à dentina.

H1: O envelhecimento da interface influencia os valores de resistência adesiva da resina composta à dentina

2. Avaliar a influência da contaminação salivar seguida de descontaminação nos valores de resistência adesiva de uma resina composta à dentina.

H0: A contaminação salivar seguida de descontaminação não influencia os valores de resistência adesiva da resina composta à dentina.

H1: A contaminação salivar seguida de descontaminação influencia os valores de resistência adesiva da resina composta à dentina.

3. Avaliar a influência do protocolo de descontaminação de saliva nos valores de resistência adesiva de uma resina composta à dentina.

H0: O protocolo de descontaminação de saliva não influencia os valores de resistência adesiva da resina composta à dentina.

H1: O protocolo de descontaminação de saliva influencia os valores de resistência adesiva da resina composta à dentina.

4. Avaliar a influência da reaplicação do adesivo após descontaminação de saliva nos valores de resistência adesiva de uma resina composta à dentina.

H0: A reaplicação do adesivo após descontaminação de saliva não influencia os valores de resistência adesiva da resina composta à dentina.

H1: A reaplicação do adesivo após descontaminação de saliva influencia os valores de resistência adesiva da resina composta à dentina.

5. Determinar a influência das condições experimentais no tipo de falha de união.

H0: O tipo de falha de união não é influenciado pelas condições experimentais.

H1: O tipo de falha de união à dentina é influenciado pelas condições experimentais.

3. Materiais e Métodos

3.1. Delineamento experimental

Neste estudo laboratorial foi avaliada a influência do protocolo de descontaminação na resistência adesiva sob ação de forças de corte, 24 horas e 6 meses após o procedimento de adesão. Para isso, foram criados 10 grupos experimentais (n=10). Foi também realizada, às 24 horas, a análise ultramorfológica da interface adesiva através de microscopia eletrônica de varrimento (MEV) num espécime de cada grupo experimental.

A recolha dos dentes foi realizada sem identificação dos dadores, sendo este estudo aprovado pela comissão de ética da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa. Após a recolha, os dentes foram armazenados numa solução de 1% de cloramina a 4°C (ISO/TS 11405/2015) durante 1 semana e, de seguida, passados para água destilada até à sua utilização, não excedendo um período de 6 meses.

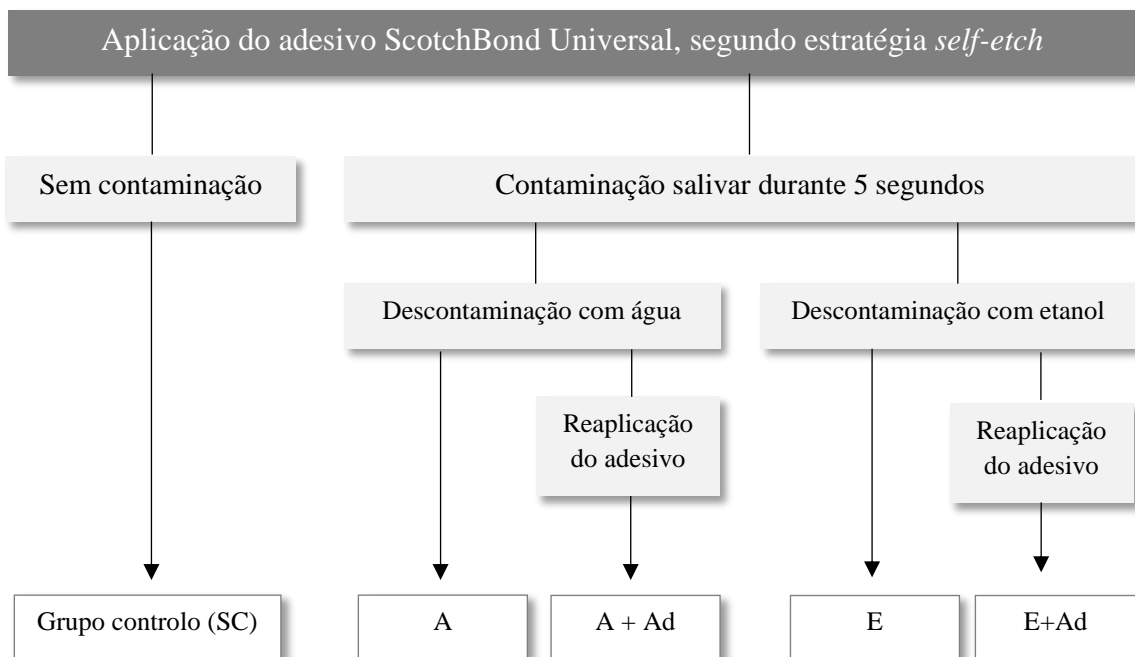




Figura 1 – Delineamento experimental.

3.2. Materiais utilizados

Para a realização deste estudo, foi utilizado um sistema adesivo universal Scotchbond Universal e uma resina composta nanohíbrida Tetric Evoceram®, cor A3,5 para a restauração sobre a zona de adesão. A fotopolimerização dos materiais foi realizada com a unidade de polimerização colocada a 5 mm do espécime, com um díodo emissor de luz de elevada intensidade – LED (Bluephase 20i, série nº 506160 – Ivoclar-Vivadente, Schaan, Liechtenstein), no programa “High” (1250 mW/cm²).

Tabela 1 – Materiais utilizados, respetiva composição e modo de utilização (segundo os fabricantes).

Materiais	Composição	Modo de utilização
Scotchbond Universal™ 3M ESPE, Neuss, Alemanha (Lote: 3184625 Validade: 2019/06) 	Bis-GMA, 10-MDP, Dimetacrilatos, HEMA (15-25%), Copolímero de Vitrebond™, Etanol, Água, Iniciadores, Silano, Partículas de carga (pH 2.7)	<i>Estratégia Self-Etch:</i> 1. Aplicação ativa sobre o substrato dentinário durante 20 segundos; 2. Secagem do adesivo com seringa de ar de forma suave, durante 5 segundos, confirmando visualmente que a superfície se encontra brilhante e sem movimento; 3. Fotopolimerização durante 10 segundos.
Tetric EvoCeram® Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein (Lote: V17575 Validade: 2020/04) 	Monómeros de dimetacrilatos (17-18% em peso); Vidro de bário, trifluoreto de itérbio, óxidos mistos e copolímeros (82-83% em peso); Aditivos, iniciadores estabilizadores e pigmentos; Total de carga inorgânica: 53-55% em volume; Tamanho das partículas de carga: entre 40 nm e 3 µm.	1. Após a aplicação do adesivo, colocação de incrementos de resina com 2 mm de espessura; 2. Fotopolimerização durante 20 segundos.

3.3. Ensaio de resistência adesiva sob forças de corte

Para o ensaio de resistência adesiva sob forças de corte utilizaram-se 50 molares humanos íntegros. Posteriormente, os espécimes foram distribuídos aleatoriamente pelos grupos experimentais, quer para o ensaio das 24 horas, quer para o ensaio dos 6 meses.

De cada dente foram obtidas duas fatias de dentina, realizando-se 3 cortes longitudinais no sentido vestibulo-lingual, de forma a remover todo o esmalte interproximal, com uma serra de diamante (Isomet™ Diamond Wafering Blades, 15 HC, referência 11-4244, Buehler, Illinois, EUA) montada num micrótomo (Isomet 1000 precision saw, Buehler, Illinois, EUA). De seguida, a superfície dentinária mais superficial foi polida com uma lixa de carboneto de silício de granulometria 400 (ISO/TS 11405/2015) durante 5 segundos e sob refrigeração, para simulação da *smear-layer* (Oliveira et al., 2003).



Figura 2 – Preparação dos espécimes. a) Máquina de corte utilizada; b) Polidora.

Os espécimes foram secos com jato de ar e adaptados à primeira placa do dispositivo de Watanabe com o auxílio de uma película auto-adesiva (Glossy White, Xerox, Connecticut, USA), onde foi realizado um orifício de 3 mm de diâmetro, de modo a padronizar a área de adesão (ISO/TS 11405/2015) (Figura 3). De seguida, foi realizado o protocolo de adesão com o adesivo Scotchbond Universal segundo a técnica *self-etch* de acordo com o fabricante. Em todos os grupos, à exceção do grupo controlo, os espécimes foram contaminados com saliva, durante 5 segundos, após polimerização do adesivo. A saliva foi recolhida de um dador do sexo masculino, saudável e antes de qualquer ingestão de alimentos (Pitta *et al.*, 2018). Posteriormente foram realizados os protocolos de descontaminação, de acordo com o grupo experimental (Tabela 2).



Figura 3 – Espécime montado nas placas de Watanabe com restauração em resina composta realizada através de um molde de silicone.

Tabela 2 – Protocolos utilizados para descontaminação da saliva, para cada grupo experimental.

<u>Descontaminação com água</u>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Lavagem da superfície contaminada com água destilada corrente durante 10 segundos e secagem com seringa de ar durante 5 segundos; ○ Realização da restauração em resina composta.
<u>Descontaminação com água seguida da reaplicação do adesivo</u>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Lavagem da superfície contaminada com água destilada corrente durante 10 segundos e secagem com seringa de ar durante 5 segundos; ○ Reaplicação do adesivo segundo as instruções do fabricante; ○ Realização da restauração em resina composta.
<u>Descontaminação com etanol</u>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Aplicação de etanol a 70%, de forma ativa com um <i>microbrush</i> durante 10 segundos; ○ Secagem durante 5 segundos; ○ Realização da restauração em resina composta.
<u>Descontaminação com etanol seguida da reaplicação do adesivo</u>	<ul style="list-style-type: none"> ○ Aplicação de etanol a 70%, de forma ativa com um <i>microbrush</i> durante 10 segundos; ○ Secagem durante 5 segundos; ○ Reaplicação do adesivo segundo as instruções do fabricante; ○ Realização da restauração em resina composta.

De seguida, nos espécimes sujeitos ao envelhecimento por um período de 6 meses, a película adesiva foi destacada da placa e os espécimes foram armazenados na estufa (Ehret TK/L 4105, Emmendingen, Alemanha), a 37°C e imersos em solução de azida sódica (pH≈7). A solução antibacteriana foi trocada mensalmente. No caso dos espécimes das 24 h, a segunda placa do dispositivo de Watanabe, foi adaptada e a fatia de dente foi coberta com gesso tipo IV (Gilstone – BK Giulini Corp Ludwigshafen, Alemanha) (Figura 4). Os espécimes foram colocados numa estufa em ambiente de humidade relativa de 100%, durante 24 horas.

**Figura 4** - Especíme montado nas placas de Watanabe.

As placas foram montadas numa máquina de testes mecânicos universal (Instron, modelo 4502, série n°H3307 – Instron Ltd, Bucks, Inglaterra) utilizando suportes apropriados, tendo o cuidado de colocar a interface adesiva alinhada com o eixo de aplicação da força. O ensaio foi realizado com uma célula de carga de 1 KN e uma velocidade de deslocação de 1 mm/min (ISO 11405/2003), até à ocorrência de falha. Os valores de resistência adesiva sob tensões de corte foram obtidos a partir da razão entre a carga medida no momento da falha e a área da interface adesiva. Os espécimes que falharam previamente ao teste, durante a manipulação, foram incluídos na análise estatística com metade do valor mínimo de MPa obtido durante o ensaio (Luque-Martinez *et al.*, 2014).

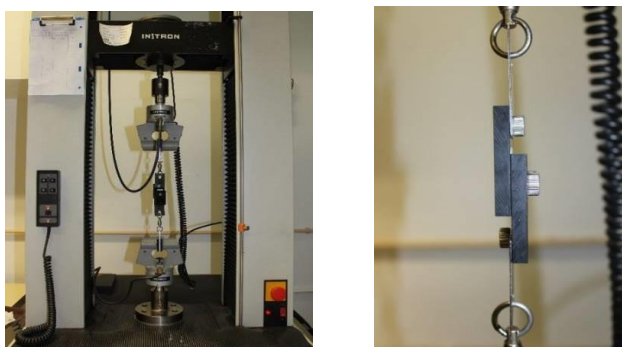


Figura 5 – Placas de Watanabe adaptadas à máquina de testes mecânicos universal, durante a realização do ensaio de resistência adesiva sob forças de corte.

No final do ensaio de resistência adesiva, a superfície da fratura foi visualizada com um estereomicroscópio (Meiji Techno Co., modelo EMZ-8TR, série n°41179, Saitama, Japão) com uma ampliação de 20X. Desta forma, foi classificado o tipo de falha como sendo adesiva, caso ocorresse na interface resina/dentina; coesiva, quando a falha era exclusiva na dentina ou na resina composta; ou mista, caso a falha apresentasse uma combinação das duas anteriores (Luque-Martinez *et al.*, 2014).

3.4. Estudo ultramorfológico da interface adesiva através de MEV

Para o estudo da ultramorfologia da interface adesiva, 5 dentes foram seccionados de forma a ser removido o esmalte coronal e as raízes, obtendo-se uma fatia de dentina com cerca de 2 mm de espessura. De seguida, após ser criada a *smear* layer através do polimento com uma lixa de carboneto de silício de granulometria 400 (ISO/TS 11405/2015), foram realizados os protocolos de adesão de acordo com o grupo experimental (ver Figura 1). A restauração, sobre a zona de adesão foi realizada com uma camada de cerca de 2 mm de resina composta fluída GradioSO (Voco; Lote 1551095;

Validade 2018/06; Cuxhaven, Alemanha), seguida de uma camada de 2 mm de resina composta Tetric EvoCeram (Ivoclar Vivadent; Lote V17575; Validade 2020/04; Schaan, Liechtenstein).

Após a imersão em água, durante um período de 24 horas, os espécimes foram fixados em 2,5% de glutaraldeído numa solução tamponada de cacodilato de sódio 0,1 M durante 24 horas, a 4°C, seguido de três imersões em cacodilato de sódio 0,1 M (pH \approx 7,2) de 20 minutos cada uma. O polimento da superfície a observar foi realizado, primeiramente, com uma sequência de lixas de granulometria decrescente (800, 1200 e 2500 - Buehler, Illinois, EUA), sob refrigeração e, de seguida, com uma sequência de pastas diamantadas policristalinas de granulometria 3 μ m, 1 μ m e 0,2 μ m (Aerosol Diamond Spray – Electron Microscopy Science) em panos de feltro para polimento (Microcloth PSA 10/PK – Buehler). Entre cada uma das lixas, os espécimes foram imersos num banho ultrassónico (Bransonic® Sonic Bath, modelo M2800-E, número de série BHS021631000B, Branson Ultrasonic Corporation, Danbury, EUA) com água destilada, durante 1 minuto, e no final da sequência de pastas de polimento foram colocados no banho ultrassónico com etanol 100%.



Figura 6 – Sequência de lixas e de panos de feltro para polimento dos espécimes a serem observados no MEV.

Após o polimento da superfície, os espécimes foram descalcificados por imersão em ácido hidrocloreídrico (HCl) 0,1 M durante 3 minutos, de seguida foram lavados com água destilada corrente durante 1 minuto e, posteriormente, colocados em hipoclorito de sódio (NaOCL) 13% durante 2 minutos. De seguida, procedeu-se à desidratação dos espécimes por imersão em concentrações crescentes de etanol (50% durante 20 minutos, 75% durante 20 minutos, 96% durante 30 minutos e 100% durante 1 hora). Por fim, os espécimes foram colocados em hexadimetilsilazano (HDMS) durante 10 minutos, tendo sido deixados a secar numa hote à temperatura ambiente, sobre um filtro de papel (Perdigão *et al.*, 1995).

Os espécimes foram fixados em discos de alumínio com uma fita de carbono de dupla face (Double Sided Carbon Tape – Electron Microscopy Science), de modo a que a superfície a observar se encontrasse virada para cima e toda a superfície em redor dos espécimes foi coberta com tinta de carbono (Graphite Conductive Adhesive 154 – Electron Microscopy Science), tendo o cuidado de não cobrir a zona da interface.

De seguida, os espécimes foram metalizados num aparelho de metalização por deposição de partículas de ouro-paládio (Jeol Fine Coat Ion Sputter JFC- 1100E, Tóquio, Japão). A interface de adesão de cada espécime foi então analisada com um Microscópio Eletrónico de Varrimento de elevada resolução Hitachi S-450 (n.º série 5333884, Tóquio, Japão), a 20 KV e em modo de eletrões secundários. Para obtenção das fotografias, foi usado um *software* associado ao microscópio (Quantax Sprit 1.8.2 – Brueker, MA, EUA), utilizando-se as ampliações de 1 KX, 2 KX, 5 KX.

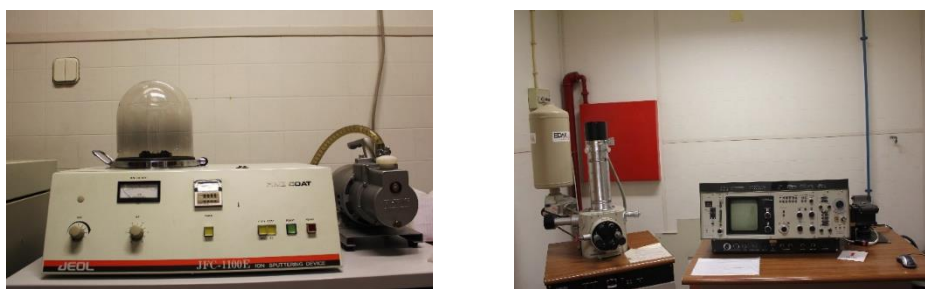


Figura 7 – Equipamento utilizado para o estudo ultramorfológico da interface adesiva. a) Aparelho de deposição de partículas ouro-paládio; b) Microscópio eletrónico de varrimento.

3.5. Análise estatística

Após obtenção dos resultados de resistência adesiva sob tensões de corte, foi realizada a estatística descritiva, sendo determinada a média, desvio padrão, mediana e distância interquartil.

Por não se terem cumprido os critérios de normalidade da distribuição da amostra e homogeneidade de variâncias, verificados com testes de Shapiro-Wilk e Levene ($p > 0,05$), respetivamente, os dados de resistência adesiva foram analisados com testes estatísticos não paramétricos. Foram utilizados testes de Kruskal-Wallis, seguidos de comparações múltiplas usando os testes de Mann-Whitney com correção de Bonferroni, de modo a avaliar diferenças entre grupos experimentais. O tipo de falha de união foi analisado estatisticamente utilizando o teste de Qui-quadrado.

Para todos os testes foi considerada uma significância estatística de $\alpha = 0,05$. Os resultados obtidos foram analisados através do *software* IBM SPSS Statistics, versão 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

4. Resultados

4.1. Estatística descritiva

A descrição dos resultados de resistência adesiva sob tensões de corte, bem como os tipos de falha de união para os diferentes grupos experimentais, encontram-se apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Análise descritiva dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa) e tipo de falha de união nos diferentes grupos experimentais (SC – Sem contaminação; A – Descontaminação com água; A+Ad – Descontaminação com água seguida de reaplicação do adesivo; E – Descontaminação com etanol; E+Ad – Descontaminação com etanol seguida de reaplicação do adesivo).

Tempo	Grupo Experimental	SBS (MPa)		Modo de falha N (%)			Falhas pré-teste N
		Média (desvio padrão)	Mediana (intervalo interquartil)	Adesivas	Mistas	Coesivas	
24 H	SC	38,5 (8,63)	37,3 (11,38)	4 (40)	6 (60)	0 (0)	0
	A	12,9 (6,90)	14,8 (11,55)	9 (90)	1 (10)	0 (0)	0
	A+Ad	19,3 (6,38)	21,1 (12,88)	9 (90)	1 (10)	0 (0)	0
	E	17,7 (8,84)	14,6 (17,71)	7 (70)	3 (30)	0 (0)	0
	E+Ad	21,0 (9,56)	23,7 (17,94)	3 (30)	6 (60)	1 (10)	0
6 M	SC	19,1 (5,24)	18,8 (10,10)	7 (70)	3 (30)	0 (0)	0
	A	3,1 (1,59)	2,9 (2,52)	10 (100)	0 (0)	0 (0)	1
	A+Ad	11,0 (3,66)	10,3 (6,60)	8 (80)	2 (20)	0 (0)	0
	E	3,1 (2,22)	3,3 (4,14)	10 (100)	0 (0)	0 (0)	2
	E+Ad	7,9 (4,62)	8,5 (5,98)	9 (90)	1 (10)	0 (0)	2

Da leitura da tabela 3, verifica-se que a mediana referente aos valores de resistência adesiva, às 24 horas, variaram entre 14,6 MPa para o grupo da descontaminação com etanol e 37,3 MPa para o grupo sem contaminação. Aos 6 meses, a mediana variou entre 2,9 MPa no grupo da descontaminação com água e 18,8 MPa no grupo sem contaminação.

4.2. Estatística inferencial

A comparação dos resultados obtidos após os dois períodos de envelhecimento, revelou uma diminuição estatisticamente significativa ($p < 0,001$) dos valores de resistência adesiva com o aumento do tempo de envelhecimento (24 horas vs. 6 meses).

Em relação aos grupos testados após 24 horas, verificou-se que ocorreu uma diminuição significativa ($p < 0,05$) dos valores de adesão de todos os grupos experimentais com contaminação comparativamente ao grupo controlo (Figura 8).

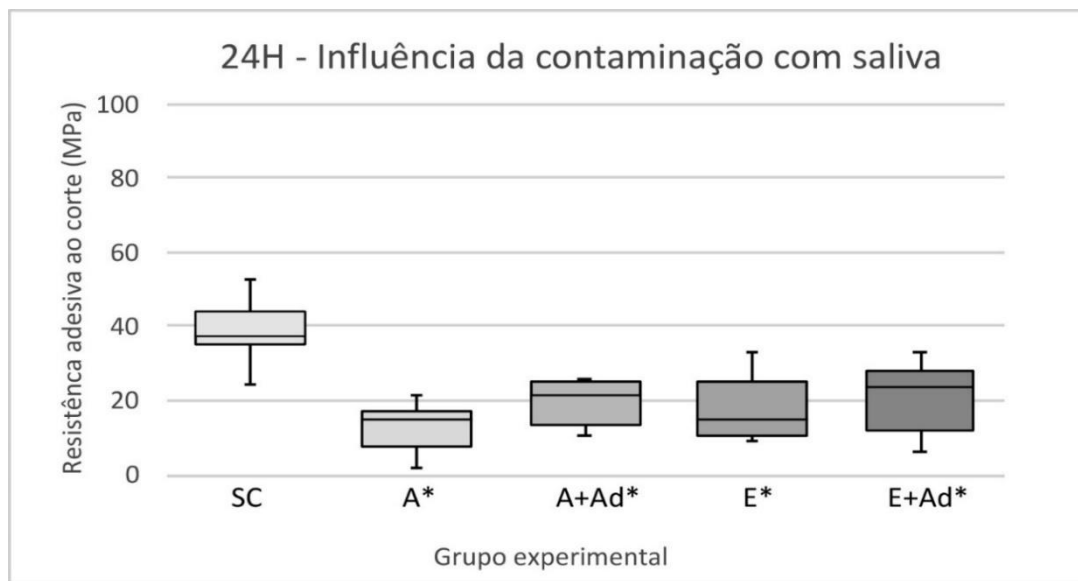


Figura 8 – Diagrama de caixas dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa), obtidos às 24 horas, dos diferentes grupos experimentais (SC – Sem contaminação; A – Descontaminação com água; A+Ad – Descontaminação com água seguida de reaplicação do adesivo; E – Descontaminação com etanol; E+Ad – Descontaminação com etanol seguida de reaplicação do adesivo). * assinala grupos experimentais com valores de resistência adesiva estatisticamente diferentes do grupo controlo, sem contaminação ($p < 0,05$).

Avaliando a influência do método de descontaminação, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos da descontaminação com água e com etanol, às 24 horas ($p = 0,289$) (Figura 9). Do mesmo modo, os grupos com reaplicação do adesivo após descontaminação foram semelhantes àqueles em que não houve reaplicação ($p = 0,072$) (Figura 10).

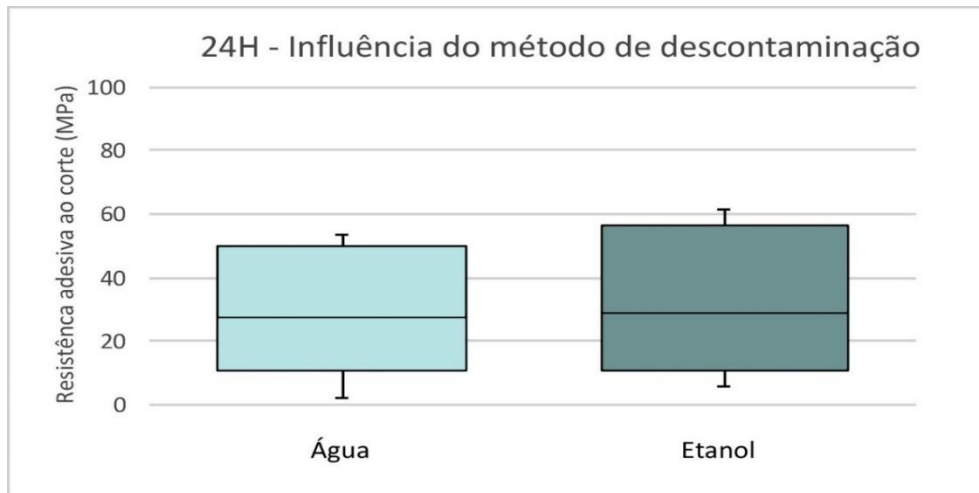


Figura 9 – Diagrama de caixas dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa), obtidos às 24 horas, comparando os diferentes métodos de descontaminação (água/etanol).

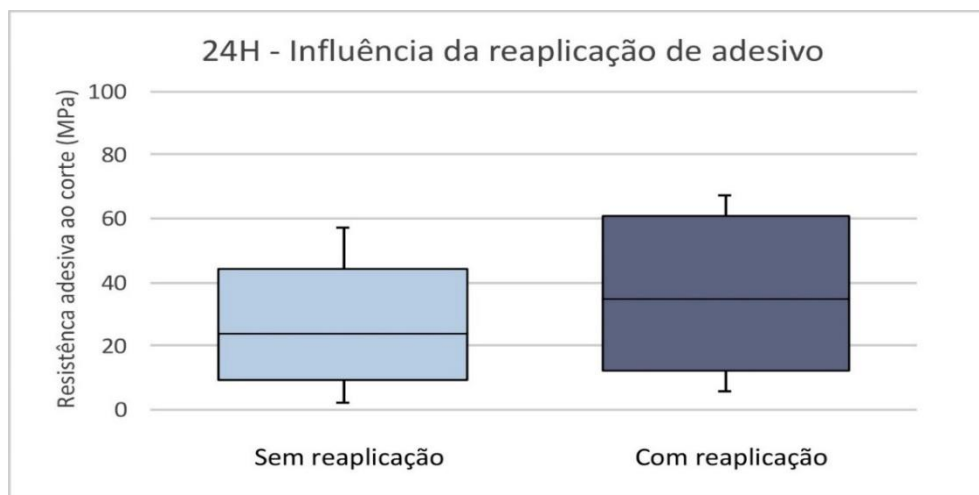


Figura 10 – Diagrama de caixas dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa), obtidos às 24 horas, comparando os grupos com reaplicação do adesivo com os grupos sem reaplicação.

Relativamente ao ensaio da resistência adesiva após 6 meses de envelhecimento, na comparação dos espécimes contaminados com saliva com o grupo controlo, foi observada uma diminuição estatisticamente significativa ($p < 0,05$) dos valores de adesão em todos os grupos experimentais, com exceção dos espécimes do grupo A+Ad. Nestes espécimes, em que a descontaminação foi realizada com água e em que o adesivo foi reaplicado foi possível obter valores de adesão estatisticamente semelhantes ($p = 0,376$) aos não contaminados (Figura 11).

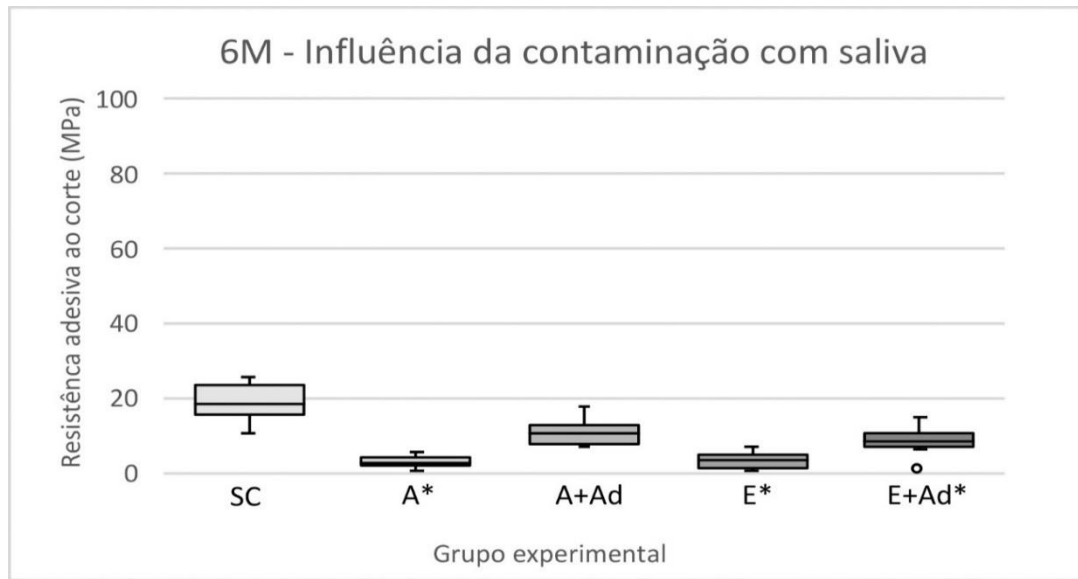


Figura 11 – Diagrama de caixas dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa), obtidos aos 6 meses, dos diferentes grupos experimentais (SC – Sem contaminação; A – Descontaminação com água; A+Ad – Descontaminação com água seguida de reaplicação do adesivo; E – Descontaminação com etanol; E+Ad – Descontaminação com etanol seguida de reaplicação do adesivo). * assinala grupos experimentais com valores de resistência adesiva estatisticamente diferentes do grupo controlo, sem contaminação ($p < 0,05$).

Ainda para os espécimes testados aos 6 meses, não foram detetadas diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,314$) entre os métodos de descontaminação (Figura 12). No entanto, avaliando a influência da reaplicação do adesivo após o protocolo de descontaminação, verificou-se que os espécimes em que se reaplicou o adesivo apresentaram valores estatisticamente mais elevados ($p < 0,001$) comparativamente aos espécimes em que o adesivo não foi reaplicado (Figura 13).

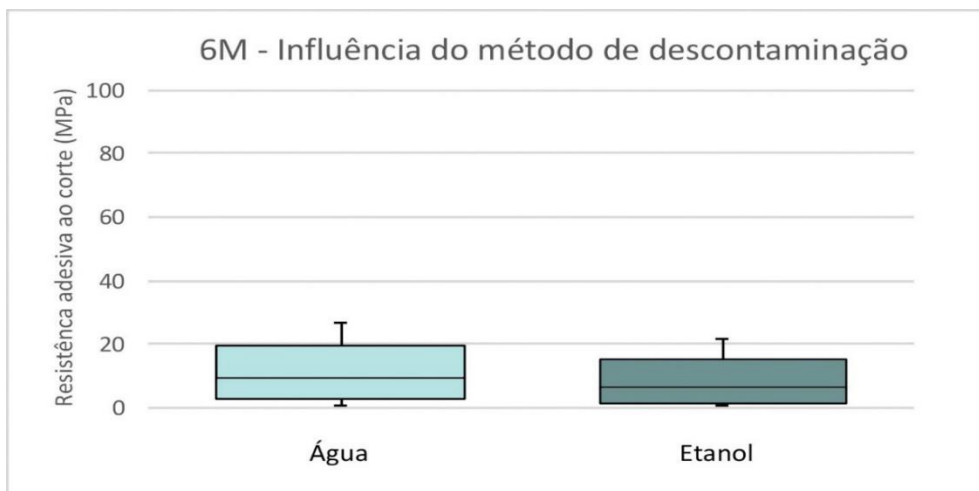


Figura 12 – Diagrama de caixas dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa), obtidos aos 6 meses, comparando os diferentes métodos de descontaminação (água/etanol).

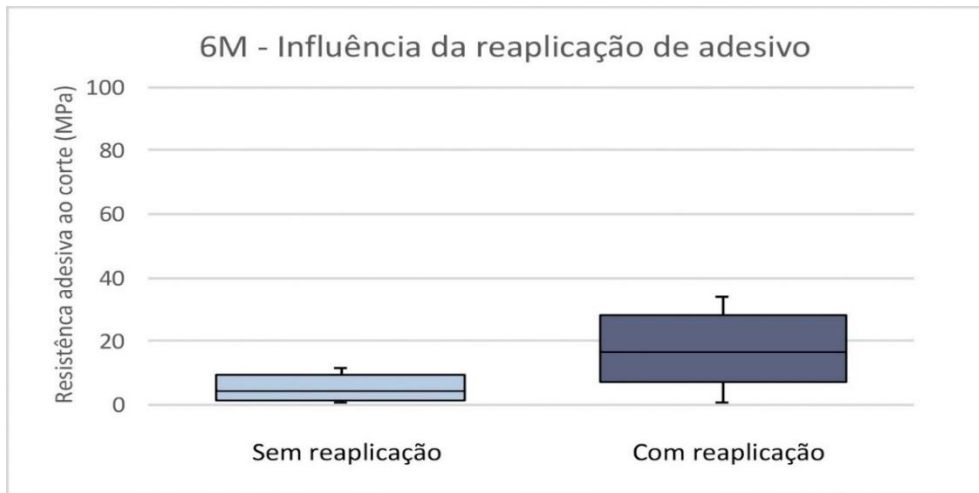


Figura 13 – Diagrama de caixas dos valores de resistência adesiva sob tensões de corte (MPa), obtidos aos 6 meses, comparando os grupos com reaplicação do adesivo com os grupos sem reaplicação.

4.3. Análise do tipo de falha

O tipo de falha observado foi predominantemente do tipo adesivo (65%), tendo-se verificado apenas duas falhas do tipo coesivo (2%) no E+Ad às 24h (Figura 14 e Tabela 3). O teste de Qui-quadrado não permitiu observar diferenças estatisticamente significativas ($p=0,667$) entre os grupos experimentais.

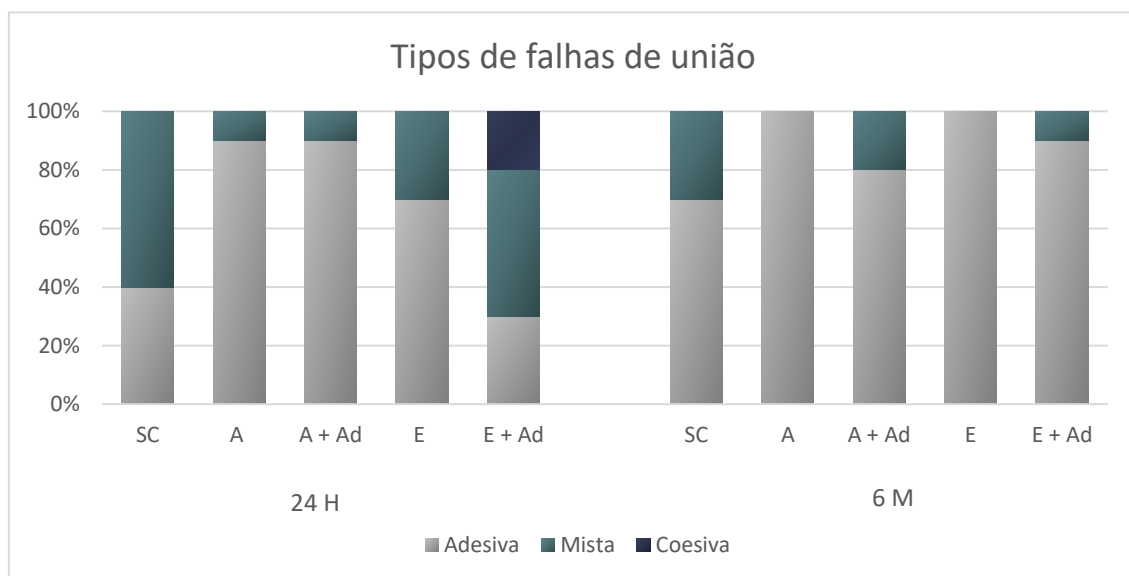


Figura 14 – Percentagem de falhas de união obtidas durante o ensaio de resistência adesivo, às 24 horas e aos 6 meses, dos diferentes grupos experimentais (SC – Sem contaminação; A – Descontaminação com água; A+Ad – Descontaminação com água seguida de reaplicação do adesivo; E – Descontaminação com etanol; E+Ad – Descontaminação com etanol seguido de reaplicação do adesivo).

4.4. Estudo ultramorfológico da interface adesiva

A caracterização da interface adesiva foi efetuada nos cinco grupos em estudo e, em cada um deles, foram realizadas microfotografias com as ampliações 1 KX, 2.5 KX e 5 KX (Apêndice 2).

De acordo com as imagens de MEV obtidas às 24 horas, verificou-se que todos os grupos experimentais revelaram interfaces adesivas íntegras, apresentando uma camada híbrida de espessura uniforme (Figura 16-20). Em geral, os espécimes avaliados apresentaram poucos prolongamentos de resina, sendo estes curtos, estreitos e com uma forma cilíndrica. Comparando os grupos experimentais observou-se que os espécimes em que ocorreu descontaminação com etanol seguida da reaplicação do adesivo apresentaram um maior número e comprimento dos prolongamentos de resina (Figura 18).

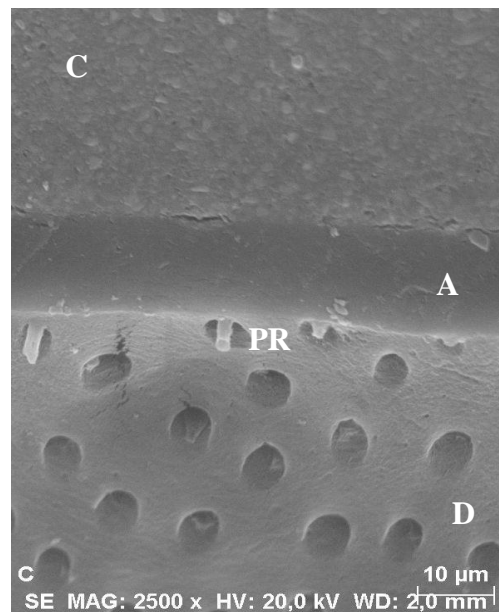


Figura 15 – Microfotografia da interface adesiva obtidas com MEV do grupo controle, sem contaminação (SC) com uma ampliação de 2,5 KX. C – Compósito; A – Camada de adesivo; PR – Prolongamento de resina; D - Dentina

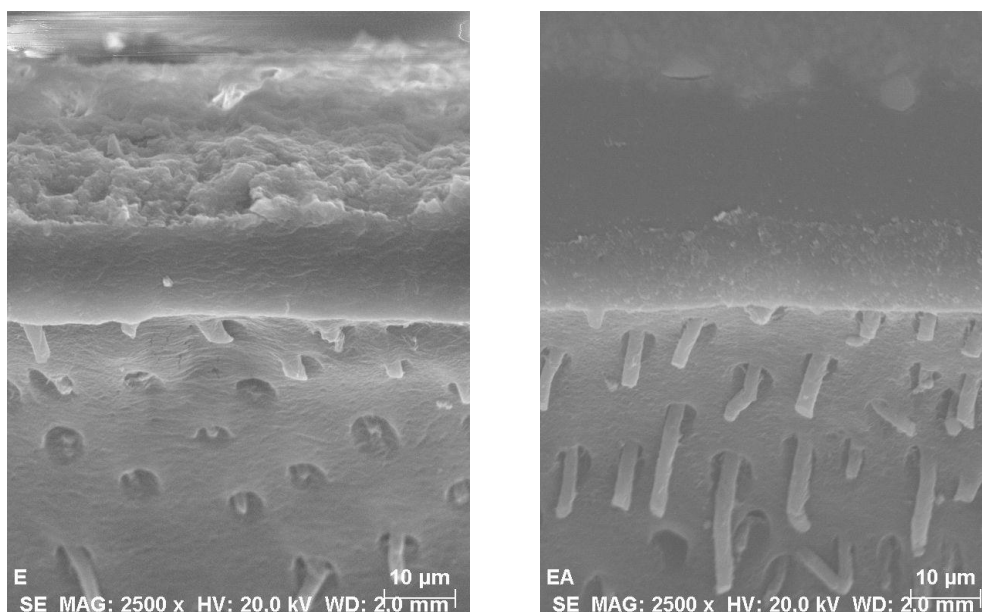


Figura 16 e 17 – Microfotografias da interface adesiva obtidas com MEV dos grupos: descontaminação com etanol (E) e descontaminação com etanol seguida de reaplicação do adesivo (E+Ad), respetivamente (ampliação 2,5 KX).

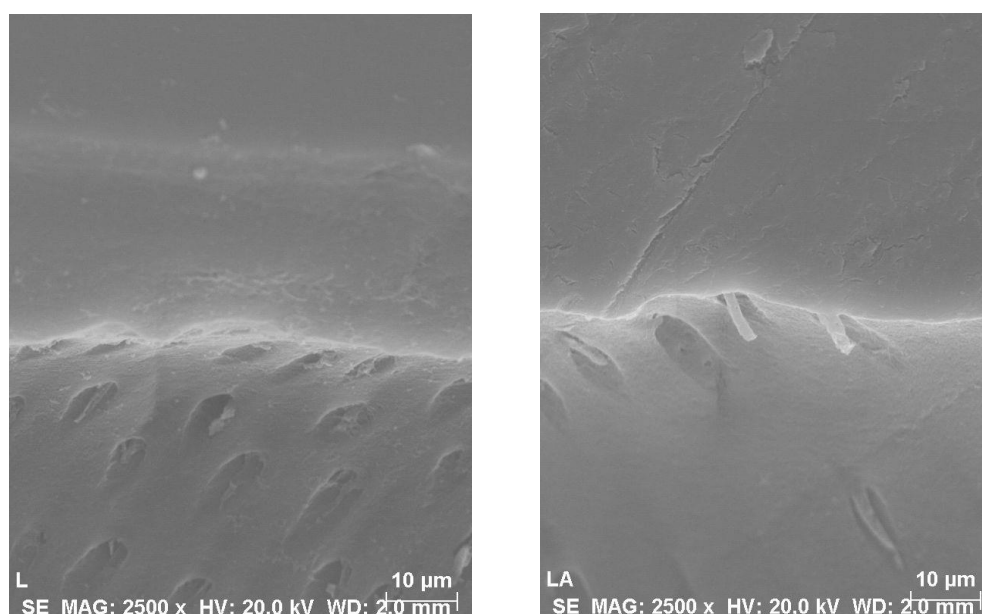


Figura 18 e 19 – Microfotografias da interface adesiva obtidas com MEV dos grupos: descontaminação com água (A) e descontaminação com água seguida de reaplicação do adesivo (A+Ad), respetivamente (ampliação 2,5 KX).

5. Discussão

Com a constante evolução e desenvolvimento de novos sistemas adesivos torna-se importante a avaliação da sua eficácia sob diferentes condições, nomeadamente, quando ocorre contaminação durante os tratamentos restauradores.

Uma das fontes de contaminação mais frequentes é a saliva que é constituída maioritariamente por água (99,4%), macromoléculas, eletrólitos e partículas orgânicas (Humphrey *et al.*, 2001). A água presente na saliva, bem como as glicoproteínas salivares, têm sido apontadas como as principais responsáveis pela diminuição da adesão à dentina (Xie *et al.*, 1993; el-Kalla *et al.*, 1997; Fritz *et al.*, 1998). Alguns estudos *in vitro* têm optado por utilizar saliva artificial como contaminante, no entanto, sabe-se que a duplicação das propriedades da saliva humana não é possível, pelo que este tipo de solução poderá introduzir erros nos resultados (Darabi *et al.*, 2012; Gal *et al.*, 2001). Por este motivo, de forma a simular as condições presentes na cavidade oral, neste estudo utilizou-se saliva humana como meio de contaminação.

No presente trabalho avaliou-se a influência da contaminação salivar após a polimerização de um sistema adesivo universal, realizando-se um ensaio de resistência adesiva sob tensões de corte. Este tipo de ensaio tem sido bastante utilizado por permitir uma fácil preparação dos espécimes e uma execução simples e previsível (Braga *et al.*, 2010; Placido *et al.*, 2007). Para além disso, apresenta vantagens quando se pretende estudar os efeitos do envelhecimento na interface adesiva, uma vez que utiliza espécimes de maiores dimensões, reduzindo a possibilidade de falhas durante a preparação e consequente redução da amostra. (Chasqueira, 2017; Vermelho *et al.*, 2016).

Os testes mecânicos usados nestes ensaios apresentam uma enorme variabilidade quando comparados entre estudos, devido à utilização de diferentes desenhos experimentais e diferenças na preparação dos espécimes. Desta forma, são uma ferramenta importante para comparar adesivos ou determinar o efeito da mudança de alguma variável dentro do mesmo estudo, no entanto, no caso de se compararem os resultados com os de outros autores, a análise deverá ser cautelosa, pois raramente se verifica a utilização dos mesmos parâmetros (DeHoff *et al.*, 1995; Peumans *et al.*, 2014).

O envelhecimento dos espécimes foi realizado por imersão numa solução com azida sódica, sendo este o protocolo que melhor simula a degradação das restaurações presentes na cavidade oral (De Munck *et al.*, 2005; Hashimoto *et al.*, 2010). Verificou-se, neste estudo, uma redução dos valores de resistência adesiva em todos os grupos após

envelhecimento durante 6 meses, o que leva à rejeição da primeira hipótese nula. Outros estudos registaram também uma diminuição da força de adesão do Scotchbond Universal ao longo do tempo, principalmente se aplicado no modo *self-etch* (Marchesi *et al.*, 2014; Vermelho *et al.*, 2017).

A degradação da interface adesiva com o tempo, principalmente nos sistemas simplificados, tem sido associada às suas características hidrofílicas que permitem uma maior absorção de água e, por sua vez, um aumento do seu potencial de degradação (Ito *et al.*, 2005; Nishitani *et al.*, 2006). Apesar de não existirem estudos acerca do efeito da contaminação e protocolos de descontaminação, na resistência adesiva de sistemas adesivos universais ao longo do tempo, pode-se inferir que a presença de saliva acelere o processo de degradação da interface adesiva, por estes apresentarem um comportamento semipermeável, mesmo após polimerização (Tay *et al.*, 2004).

De acordo com o fabricante, o sistema adesivo Scotchbond Universal é tolerante a pequenas quantidades de saliva antes da aplicação do adesivo (3M ESPE, 2013). Este facto pode ser explicado por apresentar na sua composição diversos componentes que o tornam menos suscetível à humidade, tais como: monómeros de 10-MDP que diminuem a suscetibilidade à hidrólise; uma quantidade otimizada de monómeros hidrofílicos 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) que promovem a adesão a substratos húmidos (Van Landuyt *et al.*, 2007); e um copolímero Vitrebond™ que tem sido associado a um aumento da resistência à humidade em vários adesivos (Sheikh *et al.*, 2010; Furuse *et al.*, 2011).

No mesmo sentido, os adesivos do tipo *one-bottle* têm sido considerados mais resistentes à humidade, devido às suas propriedades hidrofílicas inerentes e à sua capacidade acídica que permite a quebra dos mucopolissacáridos da saliva (Sheikh *et al.*, 2010). Para além disso, apresentam, geralmente, solventes como o etanol ou a acetona, capazes de desnaturar as glicoproteínas salivares, diminuindo assim o efeito negativo da contaminação (Eiriksson *et al.*, 2004). No entanto, esta maior tolerância parece ser dependente da fase do procedimento adesivo em que ocorre a contaminação (Yoo & Pereira, 2006; Santschi *et al.*, 2015).

Os resultados deste estudo demonstraram uma clara diferença entre os grupos com contaminação salivar e o grupo controlo, tendo ocorrido uma diminuição significativa nos valores de resistência adesiva nos grupos com contaminação. Outros estudos relataram resultados semelhantes, verificando uma drástica redução das forças adesivas quando a

contaminação ocorreu no adesivo já polimerizado (Koppolu *et al.*, 2012; Fritz *et al.*, 1998; Hedge *et al.*, 2008; Hitmi *et al.*, 1999). Assim, a segunda hipótese nula foi rejeitada.

Esta diminuição dos valores de resistência adesiva tem sido explicada pelo facto de, na presença de saliva, existir uma barreira física causada pela impregnação das glicoproteínas salivares na camada superficial do adesivo, que se encontra fracamente polimerizada devido à inibição pelo oxigénio (Perdigão *et al.*, 1996; Hiraishi *et al.*, 2003; Kermanshah *et al.*, 2010). Deste modo, a presença de macromoléculas poderá impedir a infiltração dos monómeros na rede de colagénio, quando a contaminação ocorre antes da aplicação do adesivo ou conduzir a uma redução do molhamento da resina composta, quando esta ocorre após polimerização (Neelagiri *et al.*, 2010). Para além disso, a água incorporada nesta camada recentemente polimerizada de adesivo, poderá interferir com a copolimerização do subsequente incremento de resina composta (Abdalla *et al.*, 1998).

Neste estudo, não foram encontradas diferenças nos valores de resistência adesiva entre os grupos cuja descontaminação salivar foi realizada com água ou com etanol, quer às 24 horas quer aos 6 meses não sendo por isso possível rejeitar a terceira hipótese nula. O etanol, por ser capaz de promover uma maior dispersão da água, poderia levar a uma melhor descontaminação da superfície promovendo forças adesivas superiores, no entanto, não se verificou tal pressuposto. Outros solventes, como a acetona têm sido utilizados como descontaminantes de forma eficaz quando a contaminação ocorre antes da polimerização, devido à sua capacidade de remover os monómeros não polimerizados pela presença de saliva (Elkassas & Arafa, 2016).

Quanto à reaplicação do adesivo após o processo de descontaminação, às 24 horas não foram registadas diferenças significativas entre os grupos em que se reaplicou o adesivo e os grupos em que este não foi reaplicado. No entanto, após 6 meses de envelhecimento verificaram-se valores de adesão superiores nos espécimes em que houve reaplicação, o que permite rejeitar a quarta hipótese nula. Esta nova aplicação de adesivo permite uma maior impregnação de monómeros, levando a um aumento da espessura do adesivo e menor potencial de degradação hidrolítico ao longo do tempo, pelo que este é um passo importante quando ocorre contaminação (Eiriksson *et al.*, 2004; Nunes *et al.*, 2005; Tay *et al.*, 2004).

Apesar disso, a reaplicação do adesivo não permitiu restabelecer as forças adesivas, como tem sido reportado por outros autores (Park & Lee, 2004; Ari *et al.*, 2008; Patil *et al.*, 2014). Segundo Darabi e colaboradores, quando a espessura da camada de adesivo é inferior à da camada inibida pelo oxigénio, uma porção significativa de adesivo

fica por polimerizar. Desta forma, nem todo o adesivo impregnado na rede de colagénio se encontra polimerizado, pelo que pode ser facilmente removido pela água durante a descontaminação e, ao ser realizada a secagem com jato de ar, poderá ocorrer um colapso da rede de colagénio não impregnada. A reaplicação do adesivo neste substrato alterado pode não resultar numa completa infiltração e, consequentemente, os valores de adesão não serão tão elevados (Darabi *et al.*, 2012). Sabe-se ainda que, os sistemas adesivos *self-etch* simplificados produzem uma camada de adesivo bastante fina cuja polimerização pode ser inibida até ao nível da interface (Ito *et al.*, 2005; Pashley *et al.*, 2002), o que pode justificar os resultados obtidos neste estudo, em que se utilizou um sistema adesivo universal segundo estratégia *self-etch*.

Quanto ao tipo de falha de união, verificou-se uma predominância de falhas do tipo adesivo. Fazendo a comparação entre os grupos de estudo, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas, quer às 24 horas, quer aos 6 meses. Desta forma, não foi possível rejeitar a quinta hipótese nula por não se verificar influência das condições experimentais no tipo de falha. Os resultados referentes à falha de união foram concordantes com os valores de adesão, uma vez que as falhas do tipo coesivo se verificaram em espécimes com valores de adesão elevados.

O estudo ultramorfológico, com recurso a MEV, permitiu uma análise qualitativa da integridade das interfaces adesivas dos diferentes grupos de estudo. Foi possível observar que, às 24 horas, todos os grupos apresentaram interfaces íntegras, no entanto, com reduzido número e comprimento de prolongamentos de resina. Tal seria expectável por ter sido utilizado um sistema adesivo do tipo *self-etch* classificado como ultra-suave (pH = 2,7), o que leva a uma menor interação com a dentina deixando uma quantidade considerável de cristais de hidroxiapatite em redor das fibras de colagénio. Além disso, os túbulos dentinários permanecem parcialmente obliterados, pois apenas a porção superficial dos *smear-plugs* é desmineralizada, dificultando a formação de prolongamentos de resina (Sezinando, 2014).

Verificou-se, nesta análise, que os espécimes em que foi realizado a descontaminação com etanol apresentavam uma camada híbrida alterada, possivelmente por ter existido alguma incorporação deste no interior da interface adesiva. O grupo descontaminado com etanol seguido da reaplicação do adesivo apresentou prolongamentos de resina bastante mais extensos e em maior quantidade comparativamente aos outros grupos experimentais. Do mesmo modo, alguns estudos observaram prolongamentos de resina maiores quando se utiliza etanol antes da aplicação

do adesivo, por este apresentar uma baixa pressão de vapor, o que leva a uma maior evaporação da água e, consequentemente, uma melhor infiltração dos monómeros (Shin *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2010).

Apesar de tudo, a interpretação das imagens de MEV deve ser realizada com precaução, pelo facto de existirem inúmeras variáveis que podem condicionar esta interpretação (Van Meerbeek *et al.*, 2007). Algumas destas estão relacionadas com o substrato utilizado, tais como a orientação dos túbulos dentinários, a presença de dentina esclerótica e a profundidade de dentina, pois numa dentina mais profunda, com maior número de túbulos dentinários por unidade de superfície, poder-se-ão observar um maior número de prolongamentos de resina sem que isso indique uma melhoria na adesão (Schupbach *et al.*, 1997; Van Meerbeek *et al.*, 2007). Existem também fatores relacionados com o operador, nomeadamente a impregnação uniforme dos monómeros, por ser difícil homogeneizar a pressão que é realizada durante a aplicação ativa do adesivo, bem como o número de passagens executadas. Para além disso, a secagem com jato de ar, poderá levar a oscilações na espessura do adesivo em diferentes zonas do espécime (Chasqueira, 2017).

A influência da contaminação salivar durante a aplicação do sistema adesivo tem sido avaliada, quer para o esmalte quer para a dentina, sendo que para este último substrato os resultados têm-se mostrado controversos. Esta diferença pode ser resultado de metodologias distintas, desenhos experimentais com diferentes propostas e uso de diversos sistemas adesivos. Deste modo, considera-se importante uma maior padronização dos estudos, bem como a avaliação da resistência adesiva após envelhecimento dos espécimes.

Uma das limitações deste estudo foi o facto de apresentar uma amostra reduzida, tendo-se verificado valores de desvio-padrão bastante elevados. A literatura acerca dos métodos de descontaminação e do efeito da contaminação durante a aplicação de adesivos universais mostrou-se insuficiente, pelo que são necessários mais estudos, com amostras superiores, que permitam compreender qual o protocolo mais eficaz para contrariar os efeitos da contaminação, restabelecendo as forças adesivas.

6. Conclusão

Apesar das limitações deste estudo *in vitro* é possível concluir que:

- O envelhecimento da interface influenciou a resistência adesiva. Verificou-se uma diminuição nos valores de adesão de todos os grupos experimentais ao longo dos 6 meses de envelhecimento dos espécimes;
- A contaminação com saliva após a polimerização do adesivo universal diminuiu a resistência adesiva da resina composta à dentina, independentemente do protocolo de descontaminação usado posteriormente. Quer às 24 horas, quer aos 6 meses, os grupos experimentais com contaminação apresentaram valores de resistência adesiva inferiores aos do grupo não contaminado;
- O modo de descontaminação da saliva não influenciou a resistência adesiva Os grupos experimentais em que a superfície foi descontaminada com água ou com etanol apresentaram resultados semelhantes, tanto no ensaio das 24 horas como no dos 6 meses;
- A resistência adesiva foi influenciada pela reaplicação do adesivo após o método de descontaminação. Às 24 horas estas diferenças não foram estatisticamente significativas, no entanto, após 6 meses, os grupos em que foi reaplicado o adesivo apresentaram valores de resistência adesiva significativamente superiores;
- As condições experimentais não influenciaram o tipo de falha de união.

7. Referências Bibliográficas

- 3M ESPE (2013). Scotchbond Universal Adhesiva – Technical Product Profile.
- Abdalla, A.I., Davidson, C.L. (1998). Bonding efficiency and interfacial morphology of one-bottle adhesives to contaminated dentin surfaces. *Americ J Dent*, 11(6), 281-5.
- Alex, G. (2015). Universal Adhesives: The Next Evolution in Adhesive Dentistry? *Compendium of Continuing Education in Dentistry*, (January), 15–26.
- Ari, H., Dönmez, N., Belli, S. (2008). Effect of artificial saliva contamination on bond strength to pulp chamber dentin. *Eur J Dent*, 2, 86-90.
- Braga, R. R., Meira, J. B. C., Boaro, L. C. C., Xavier, T. A. (2010). Adhesion to tooth structure: A critical review of “macro” test methods. *Dental Materials*, 26(2), 38–49.
- Brauchli, L., Eichenberger, M., Steineck, M., Wichelhaus, A. (2010). Influence of decontamination procedures on shear forces after contamination with blood or saliva. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 138(4), 435–441.
- Chasqueira, F. (2017). Influência do tipo de sistema adesivo, protocolo de aplicação e envelhecimento de sistemas adesivos simplificados na adesão à dentina. (Tese de doutoramento). FMDUL, Portugal.
- Darabi, F., Tavangar, M., Davaloo, R. (2012). Effect of different decontamination procedures from a saliva-contaminated cured bonding system (Single Bond). *Dent Res J* 9(4), 399-403.
- De Munck, J., Van Meerbeek, B., Yoshida, Y., Inoue, S., Vargas, M., Suzuki, K., Vanherle, G. (2003). 27 Four-year Water Degradation of Total-etch Adhesives Bonded to Dentin. *Journal of Dental Research*, 82(2), 136–140.
- DeHoff, P. H., Anusavice, K. J., Wang, Z. (1995). Three-dimensional finite element analysis of the shear bond test. *Dent Mater*, 11(2), 126–131.
- Duarte, S. J., Lolato, A. L., de Freitas, C. R. B., Dinelli, W. (2005). SEM analysis of internal adaptation of adhesive restorations after contamination with saliva. *J Adhe Dent*, 7(1), 51-6.
- Eick, J. D., Gwinnett, A. J., Pashley, D. H., Robinson, S. J. (1997). Current concepts on adhesion to dentin. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 8(3), 306-35.
- Eiriksson, S. O., Pereira, P. N. R., Swift, E. J., Heymann, H. O., & Sigurdsson, A. (2004). Effects of saliva contamination on resin-resin bond strength. *Dent Mater*, 20(1), 37–44.
- El- Kalla, I.H., Garcia-Godoy, F. (1997). Saliva contamination and bond strength of single-bottle adhesives to enamel and dentin. *Am J Dent*, 10, 83-7.
- El-Kalla. (1999). Saliva contamination and resin micromorphological adaptation to cavity walls using single-bottle adhesives. *Am J Dent*, 12(4), 172-6.

- Elkassas, D., Arafa, A. (2016). Assessment of post-contamination treatments affecting different bonding stages to dentin. *European Journal of Dentistry*, 10(3), 327–332.
- Fritz, U. B., Finger, W. J., Stean, H. (1998). Salivary contamination during bonding procedures with a one-bottle adhesive system. *Quintessence Inter J*, 29(9), 567-72.
- Furuse, A., Cunha, L., Moresca, R., Paganeli, G., Mondelli, R., Mondelli, J. (2011). Enamel Wetness Effects on Bond Strength Using Different Adhesive Systems. *Operative Dentistry*, 36(3), 274-80.
- Gal, J. Y., Fovet, Y., Adib-Yadzi, M. (2001). About a synthetic saliva for in vitro studies. *Talanta*, 53(6), 1103-15.
- Gordan, V. V., Vargas, M. A., Cobb, D. S., & Denehy, G. E. (1997). Evaluation of adhesive systems using acidic primers. *American Journal of Dentistry*, 10(5), 219-23.
- Hashimoto, M., Ohno, H., Sano, H., Kaga, M., Oguchi, H. (2003). In vitro degradation of resin-dentin bonds analyzed by microtensile bond test, scanning and transmission electron microscopy. *Biomaterials*, 24(21), 3795–3803.
- Hiraishi, N., Kitasako, Y., Nikaido, T., Nomura, S., Burrow, M. F., Tagami, J. (2003). Effect of artificial saliva contamination on pH value change and dentin bond strength. *Dent Mater*, 19(5): 429-34.
- Hormati, A.A., Fuller, J.L., Denehy, G.E. (1980). Effects of contamination and mechanical disturbance on the quality of acid-etched enamel. *J Amer Dent Assoc*, 100(1), 34-8.
- Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 85(2), 162-9.
- ISO/TS 11405 (2003). Dental materials – testing of adhesion to tooth structure.
- ISO/TS 11405 (2015). Dentistry – testing of adhesion to tooth structure.
- Ito, S., Hashimoto, M., Wadgaonkar, B., Svizero, N., Carvalho, R. M., Yiu, C., Pashley, D. H. (2005). Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials*, 26(33), 6449-59.
- Kermanshah, H., Ghabraei, S., Bitaraf, T. (2010). Effect of salivary contamination during different bonding stages on shear dentin bond strength of one-step self-etch and total etch adhesive. *Journal of Dentistry*, 7(3), 132–138.
- Khanehmajedi, M., Naseri, M. A., Khanehmajedi, S., Basir, L. (2017). Comparative evaluation of shear bond strength of metallic brackets bonded with two different bonding agents under dry conditions and with saliva contamination. *J Chi Med Asso*, 80(2), 103–108.
- Kim, J., Gu, L., Breschi, L., Tjaderhane, L., Choi, K., Pashley, H., Tay, R. (2010). Implication of ethanol wet-bonding in hybrid layer remineralization. *J Dent Res*, 89(6), 575-80.
- Kim, J., Hong, S., Choi, Y., Park, S. (2015). The effect of saliva decontamination procedures on dentin bond strength after universal adhesive curing. *Rest Dent Endo*, 40(4), 299–305.

- Koppolu, M., Gogala, D., Mathew, V., Thangala, V., Deepthi, M., Sasidhar, N. (2012). Effect of saliva and blood contamination on the bond strength of self-etching adhesive system- An in vitro study. *Journal of Conservative Dentistry*, 15(3), 270.
- Luque-Martinez, I. V., Perdigão, J., Muñoz, M. A., Sezinando, A., Reis, A., Loguercio, A. D. (2014). Effects of solvent evaporation time on immediate adhesive properties of universal adhesives to dentin. *Dental Materials*, 30(10), 1126–1135.
- Marchesi, G., Frassetto, A., Mazzoni, A., Apolonio, F., Diolosà, M., Cadenaro, M., Breschi, L. (2014). Adhesive performance of a multi-mode adhesive system: 1-Year in vitro study. *Journal of Dentistry*, 42(5), 603–612.
- Muñoz, M., Luque-Martinez, I., Malaquias, P., Hass, V., Reis, A., Campanha, N., Loguercio, A. (2015). In Vitro Longevity of Bonding Properties of Universal Adhesives to Dentin. *Operative Dentistry*, 40(3), 282–292.
- Neelagiri, K., Kundabala, M., Shashi, R.A., Thomas, M.S., Parolia, A. (2010). Effects of saliva contamination and decontamination procedures on shear bond strength os self-etch dentine bonding systems: An in vitro study. *J Conserv Dent*, 13(2), 71-5.
- Nishitani, Y., Yoshiyama, M., Donnelly, M., Agee, K.A., Sword, J., Tay, F.R., Pashley, D.H. (2006). Effects of resin hydrophilicity on dentin bond strength. *J Dent Res*, 85(11), 1016-21.
- Nunes, T. G., Ceballos, L., Osorio, R., & Toledano, M. (2005). Spatially resolved photopolymerization kinetics and oxygen inhibition in dental adhesives. *Biomaterials*, 26(14), 1809-17.
- Oliveira, S. S. A., Pugach, M. K., Hilton, J. F., Watanabe, L. G., Marshall, S. J., Marshall, G. W. (2003). The influence of the dentin smear layer on adhesion: A self-etching primer vs. a total-etch system. *Dental Materials*, 19(8), 758–767.
- Osorio, R., Toledano, M., de Leonardi, G., & Tay, F. (2003). Microleakage and interfacial morphology of self-etching adhesives in class V resin composite restorations. *Journal of Biomedical Materials Research*, 66B(1), 399–409.
- Park, J., Lee, K. C. (2004). The influence of salivary contamination on shear bond strength of dentin adhesive systems. *Operative Dentistry*, 29(4), 437—442.
- Pashley, D. H., Tay, F. R., Breschi, L., Tjäderhane, L., Carvalho, R. M., Carrilho, M. (2011). State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater*, 27(1), 1–16.
- Pashley, E. L., Agee, K. A., Pashley, D. H., Tay, F. R. (2002). Effects of one versus two applications of an unfilled, all-in-one adhesive on dentine bonding. *J Dent*, 30(2-3), 83-90.
- Patil, S.B., Shivakumar, A.T., Shah, S. (2014). Effect of salivary contamination on shear bond strength os two adhesives: An in vitro study. *Dent hypotheses*, 5, 115-20.
- Perdigão, J., Lambrechts, P., Van Meerbeek, B., Vanherle, G., Lopes, A.L. (1995). Field emission SEM comparison of four postfixation drying techniques for human dentin. *J Biomed Mater Res*, 29(9), 1111-20.

- Perdigão, J., Lambrechts, P., Van Meerbeek, B., Tomé, Â. R., Vanherle, G., & Lopes, A. B. (1996). Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. *Dent Mater*, 12(4), 262-71.
- Perdigão, J., Kose, C., Mena-Serrano, A., De Paula, E., Tay, L., Reis, A., Loguercio, A. (2014). A New Universal Simplified Adhesive: 18-Month Clinical Evaluation. *Operative Dentistry*, 39(2), 113–127.
- Peumans, M., Kanumilli, P., De Munck, J., Van Landuyt, K., Lambrechts, P., & Van Meerbeek, B. (2005). Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials. *Dental Materials*, 21(9), 864–881.
- Pitta, J., Branco T.C., Portugal, J. (2017). Effect of saliva contamination and artificial aging on different primer/cement systems bonded to zirconia. *J Prosthet Dent*, 119(5), 833-9.
- Placido, E., Meira, J. B. C., Lima, R. G., Muench, A., Souza, R. M. de, Ballester, R. Y. (2007). Shear versus micro-shear bond strength test: A finite element stress analysis. *Dent Materials*, 23(9), 1086–1092.
- Prasad, M., Mohamed, S., Nayak, K., Shetty, S., Talapaneni, A. (2014). Effect of moisture, saliva and blood contamination on the shear bond strength of brackets bonded with a conventional bonding system and self-etched bonding system. *J Nat Sci Biol*, 5(1), 123-9.
- Santschi, K., Peutzfeldt, A., Lussi, A., Flury, S. (2015). Effect of salivary contamination and decontamination on bond strength of two one-step self-etching adhesives to dentin of primary and permanent teeth. *J Adhes Dent*, 17, 51-7.
- Sattabanasuk, V., Shimada, Y., Tagami, J. (2006). Effects of saliva contamination on dentin bond strength using all-in-one adhesives. *The Journal of Adhesive Dentistry*, 8(5), 311-8.
- Sezinando, A. (2014). Looking for the ideal adhesive - A review. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentaria e Cirurgia Maxilofacial*, 55(4), 194–206.
- Sheikh, H., Heymann, H. O., Swift, E. J., Ziemiecki, T. L., Ritter, A. V. (2010). Effect of saliva contamination and cleansing solutions on the bond strengths of self-etch adhesives to dentin. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, 22(6), 402–410.
- Shin, T.P., Yao, X., Huenergardt, R., Walker, M.P., Wang, Y. (2009). Morphological and Chemical Characterization of Bonding Hydrophobic Adhesive to Dentin Using Ethanol Wet Bonding Technique. *Dent Mater*, 25(8), 1050-7.
- Shupbach, P., Frohlich, M., Lutz, F. (1997). Dentin bonding: effect of tubule orientation on hybrid-layer formation. *Eur J Oral Sci*, 105(4), 344-52.
- Silverstone, L. M., Hicks, M. J., Featherstone, M. J. (1985). Oral fluid contamination of etched enamel surfaces: an SEM study. *J Americ Dent Assoc*, 110(3), 329–332.
- Taskonak, B., Sertgo, A. (2002). Shear bond strengths of saliva contaminated. *J Oral Rehab*, 29, 559–564.

- Tay, F. R., Frankenberger, R., Krejci, I., Bouillaguet, S., Pashley, D. H., Carvalho, R. M., Lai, C. N. S. (2004). Single-bottle adhesives behave as permeable membranes after polymerization. I. In vivo evidence. *Journal of Dentistry*, 32(8), 611–621.
- Townsend, R.D., Dun, W.J. (2004). The effect of saliva contamination on enamel and dentin using a self-etching adhesive. *J Am Dent Assoc*, 135(7), 895-901.
- Van Landuyt, K. L., Snauwaert, J., De Munck, J., Peumans, M., Yoshida, Y., Poitevin, A., Van Meerbeek, B. (2007). Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*, 28(29), 3757-85.
- Van Meerbeek, B., De Munck, J., Yoshida, Y., Inoue, S., Vargas, M., Vijay, P., Vanherle, G. (2003). Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Operative Dentistry*, 28(3), 215-35.
- Van Meerbeek, B. (2007). The Myth of nanoleakage. *J Adhes Dent*; (6): 91-92.
- Vermelho, P. M., Reis, A. F., Ambrosano, G. M. B., Giannini, M. (2017). Adhesion of multimode adhesives to enamel and dentin after one year of water storage. *Clinical Oral Investigations*, 21(5), 1707–1715.
- Vieira, S. N., Kawaguchi, F. A., Botta, S. B., Matos, A. B. (2010). Longitudinal evaluation of the effect of saliva contamination during the bonding protocol with a self-etch adhesive system. *Brazilian Journal of Oral Sciences*, 9(2), 98–103.
- Xie, J., Powers, J.M., McGuckin, R.S. (1993). In vitro bond strength of two adhesives to enamel and dentin under normal and contaminated conditions. *Dent Mater*, 9, 295-9.
- Yoo, H. M., Oh, T. S., Pereira, P. N. R. (2006). Effect of Saliva Contamination on the Microshear Bond Strength of One-step Self-etching Adhesive Systems to Dentin. *Operative Dentistry*, 31(1), 127–134.
- Yoo, H. M., Pereira, P. N. R. (2006). Effect of Blood Contamination with 1-step Self-etching Adhesives on Microtensile Bond Strength to dentin. *Oper Dent*, 31(6), 660–665.
- Yoshida, Y., Yoshihara, K., Nagaoka, N., Hayakawa, S., Torii, Y., Ogawa, T., Meerbeek, B. Van. (2012). Self-assembled nano-layering at the adhesive interface. *Journal of Dental Research*, 91(4), 376–381.
- Zuffa, J., Shen, H., Chen, L., Suh, B.I. Effect of saliva contamination on bond strengths of universal adhesives. *Dent Mater*, 30S, e1-180.

8. Apêndices

Apêndice 1 – Dados do ensaio de resistência adesiva

Grupo	Protocolo	Tempo	Espécime	KN	MPa	Falha
1	1	1	1	0,2502	35,74	2
1	1	1	2	0,1915	27,36	1
1	1	1	3	0,1712	24,46	1
1	1	1	4	0,2671	38,16	1
1	1	1	5	0,3007	42,96	1
1	1	1	6	0,3694	52,77	2
1	1	1	7	0,309	44,17	2
1	1	1	8	0,3294	47,06	2
1	1	1	9	0,2489	35,56	2
1	1	1	10	0,2547	36,39	2
2	2	1	1	0,1194	17,06	1
2	2	1	2	0,1203	17,54	1
2	2	1	3	0,0139	1,99	1
2	2	1	4	0,094	13,52	2
2	2	1	5	0,0342	4,88	1
2	2	1	6	0,057	8,14	1
2	2	1	7	0,1526	21,8	1
2	2	1	8	0,1467	20,96	1
2	2	1	9	0,1127	16,1	1
2	2	1	10	0,0525	7,5	1
3	3	1	1	0,1768	25,26	2
3	3	1	2	0,1671	23,87	1
3	3	1	3	0,0757	10,81	*
3	3	1	4	0,0891	12,72	*
3	3	1	5	0,1288	18,4	1
3	3	1	6	0,1755	25,07	1
3	3	1	7	0,1827	26,1	1
3	3	1	8	0,0739	10,55	*
3	3	1	9	0,113	16,14	1
3	3	1	10	0,1717	24,53	1
4	4	1	1	0,1114	15,91	1
4	4	1	2	0,07	10	1
4	4	1	3	0,1915	27,36	2
4	4	1	4	0,0661	9,44	1
4	4	1	5	0,2291	32,84	2
4	4	1	6	0,0936	13,37	1
4	4	1	7	0,0639	9,13	1
4	4	1	8	0,1378	19,69	2
4	4	1	9	0,1974	28,2	1
4	4	1	10	0,078	11,14	1

Grupo	Protocolo	Tempo	Espécime	KN	MPa	Falha
5	5	1	1	0,145	20,64	2
5	5	1	2	0,1095	15,64	2
5	5	1	3	0,0767	10,96	2
5	5	1	4	0,0748	10,69	1
5	5	1	5	0,1312	32,89	3
5	5	1	6	0,2302	30,2	3
5	5	1	7	0,2114	28,37	2
5	5	1	8	0,1986	26,84	2
5	5	1	9	0,1942	27,74	2
5	5	1	10	0,0384	5,99	1
6	1	2	1	0,1794	25,63	2
6	1	2	2	0,1543	22,04	2
6	1	2	3	0,1786	25,51	2
6	1	2	4	0,1328	18,97	1
6	1	2	5	0,1707	24,3	1
6	1	2	6	0,124	17,71	1
6	1	2	7	0,0878	12,54	1
6	1	2	8	0,1303	18,61	1
6	1	2	9	0,1061	15,16	1
6	1	2	10	0,0764	10,91	1
7	2	2	1	0,0302	4,32	1
7	2	2	2	0,015	2,15	1
7	2	2	3	0,0258	3,68	1
7	2	2	4	*	0,485*	1
7	2	2	5	0,0125	1,79	1
7	2	2	6	0,038	5,43	1
7	2	2	7	0,0177	2,53	1
7	2	2	8	0,0158	2,26	1
7	2	2	9	0,0223	3,18	1
7	2	2	10	0,0375	5,36	1
8	3	2	1	0,0808	11,55	1
8	3	2	2	0,0726	10,37	1
8	3	2	3	0,0497	7,1	1
8	3	2	4	0,0546	7,19	1
8	3	2	5	0,1012	17,43	1
8	3	2	6	0,0937	13,39	1
8	3	2	7	0,1135	16,21	2
8	3	2	8	0,0714	10,2	2
8	3	2	9	0,0635	9,07	1
8	3	2	10	0,0532	7,6	1

Grupo	Protocolo	Tempo	Espécime	KN	MPa	Falha
9	4	2	1	0,0068	0,97	1
9	4	2	2	0,0273	3,9	1
9	4	2	3	0,0473	6,76	1
9	4	2	4	0,0284	4,05	1
9	4	2	5	*	0,485*	1
9	4	2	6	0,0118	2,68	1
9	4	2	7	0,018	1,68	1
9	4	2	8	*	0,485*	1
9	4	2	9	0,337	4,81	1
9	4	2	10	0,0387	5,53	1
10	5	2	1	0,0574	8,2	1
10	5	2	2	*	0,485*	1
10	5	2	3	0,0621	8,87	1
10	5	2	4	0,0478	6,83	1
10	5	2	5	0,066	9,43	2
10	5	2	6	0,1054	15,06	1
10	5	2	7	0,0765	10,93	1
10	5	2	8	0,0834	11,92	1
10	5	2	9	0,0474	6,77	1
10	5	2	10	*	0,485*	1

*falhas pré-teste

Apêndice 2 – Microfotografias da microscopia eletrônica de varrimento (MEV)

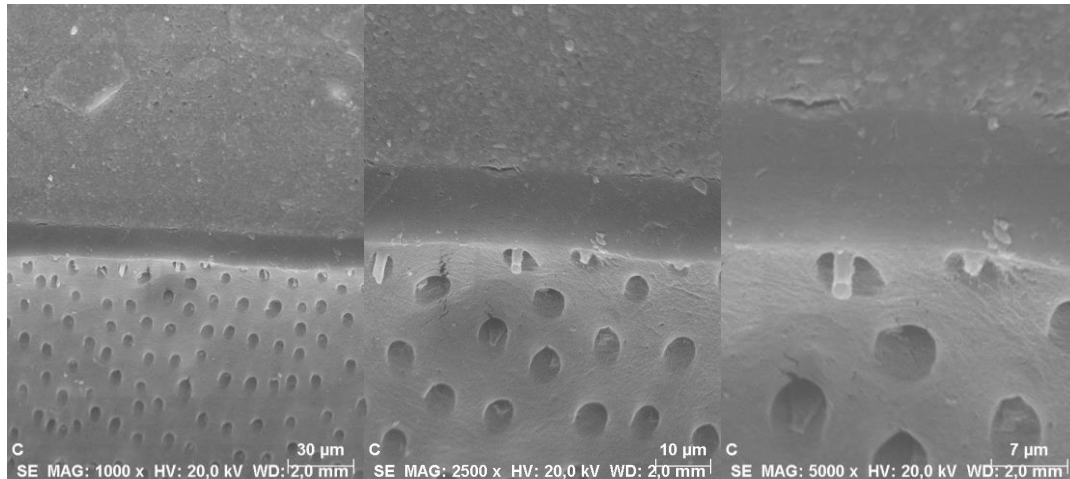


Figura 1a – Microfotografias da interface adesiva obtidas com MEV do grupo controle, sem contaminação (SC) (ampliações 1 KX, 2.5 KX, 5 KX).

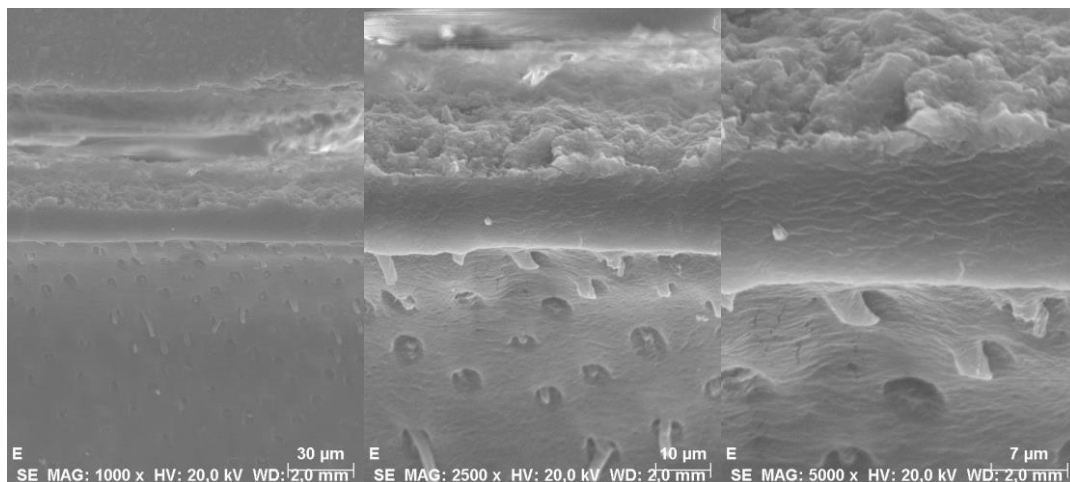


Figura 2a – Microfotografias da interface adesiva obtidas com MEV de descontaminação com etanol (E) (ampliações 1 KX, 2.5 KX, 5 KX).

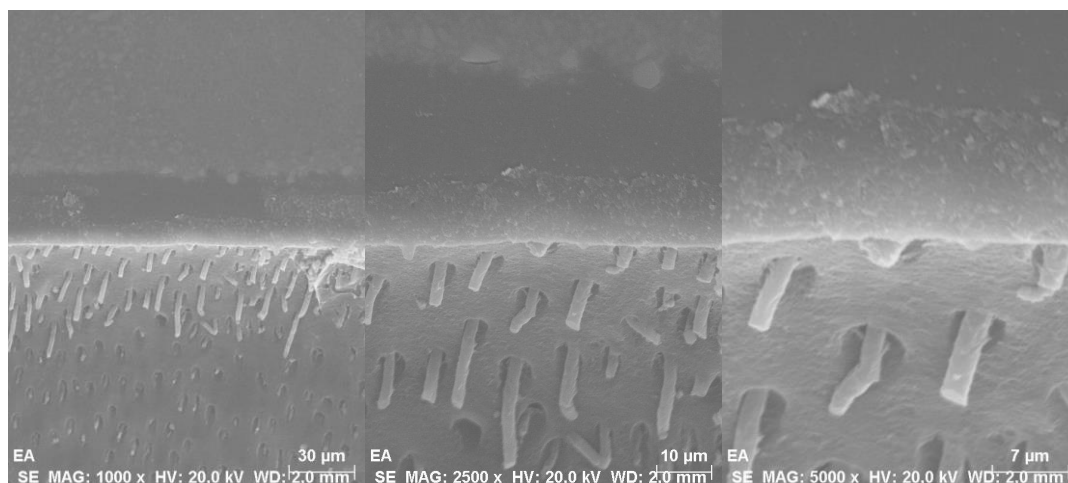


Figura 3a – Microfotografias da interface adesiva obtidas com MEV de descontaminação com etanol seguida da reaplicação do adesivo (E+Ad) (ampliações 1 KX, 2.5 KX, 5 KX).

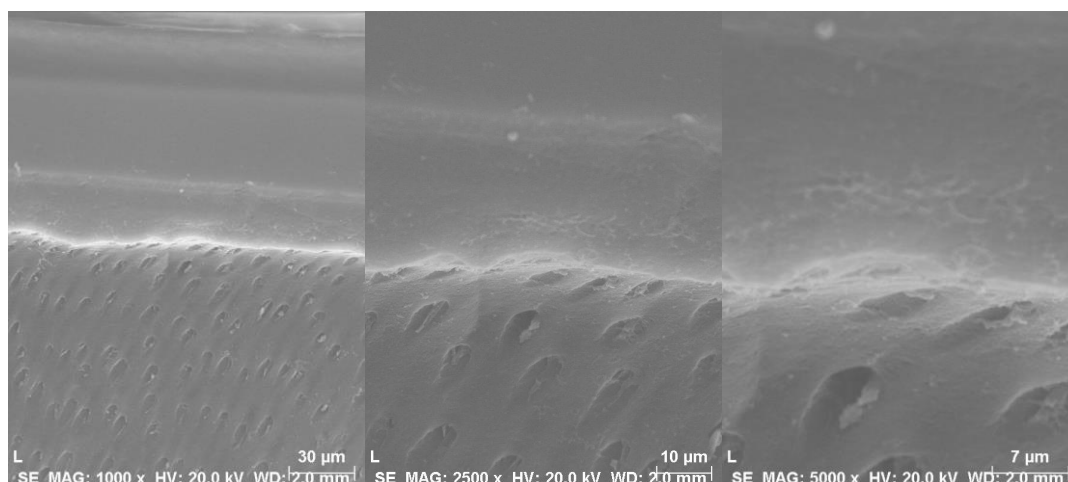


Figura 4a – Microfotografias da interface adesiva obtidas com MEV de descontaminação com água (A) (ampliações 1 KX, 2.5 KX, 5 KX).

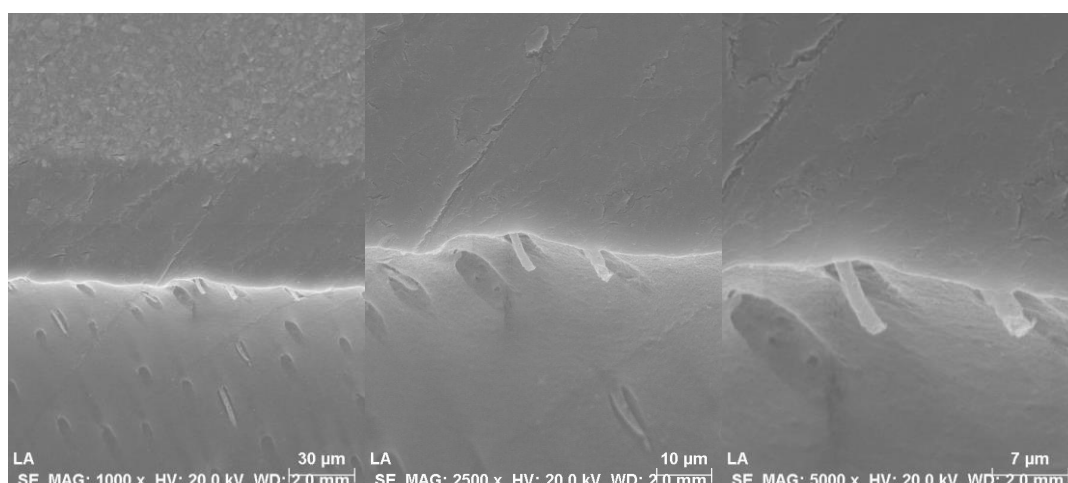


Figura 5a – Microfotografias da interface adesiva obtidas com MEV de descontaminação com água seguida da reaplicação do adesivo (A+Ad) (ampliações 1 KX, 2.5 KX, 5 KX).

Apêndice 3 – Análise estatística com os critérios de normalidade da distribuição da amostra e homogeneidade de variâncias

Tabela 1a – Testes de Shapiro-Wilk para avaliação da normalidade da distribuição da amostra.

experimental_group		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
SBS_MPa	no contamination 24H	0,168	10	,200*	0,971	10	0,900
	water 10 sec 24H	0,176	10	,200*	0,933	10	0,483
	water 10 sec + adhesive 24H	0,261	10	0,052	0,844	10	0,049
	ethanol 10 sec 24H	0,188	10	,200*	0,864	10	0,086
	ethanol 10 sec + adhesive 24H	0,230	10	0,144	0,909	10	0,273
	no contamination 6M	0,138	10	,200*	0,937	10	0,516
	water 10 sec 6M	0,144	10	,200*	0,957	10	0,754
	water 10 sec + adhesive 6M	0,170	10	,200*	0,905	10	0,250
	ethanol 10 sec 6M	0,144	10	,200*	0,934	10	0,490
	ethanol 10 sec + adhesive 6M	0,204	10	,200*	0,928	10	0,429

Tabela 2a – Testes de Levene para avaliação da homogeneidade de variâncias

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
SBS_MPa	Based on Mean	5,870	9	90	0,000
	Based on Median	4,041	9	90	0,000
	Based on Median and with adjusted df	4,041	9	54,964	0,001
	Based on trimmed mean	5,719	9	90	0,000